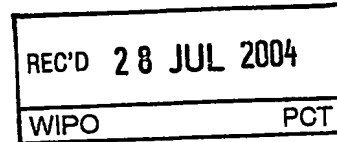


证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日: 2004. 03. 19
申 请 号: 2004100143675



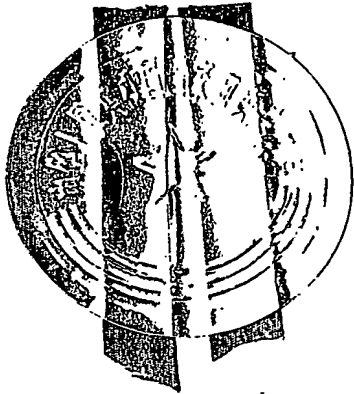
申 请 类 别: 发明

发明创造名称: 带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂及用途

申 请 人: 吴巍

发明人或设计人: 吴巍、杜明华

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



中华人民共和国
国家知识产权局局长

王 景 川

2004 年 6 月 17 日

权利要求书

1、带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，其特征是将超声微泡造影剂与带有靶向物质的示踪或标记同位素物质混合或结合。

2、由权利要求 1 所述的带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，其特征是带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂的种类包括 ^{125}I 、 ^{123}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP 等)、 ^{111}In 、 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{13}N 、 ^{85}Rb 。其中正电子衰变放射性核素 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}F 等机体天然存在的元素标记的放射性药物用于 PET 显像。

3、由权利要求 1 所述的带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，其特征是同时具有治疗功能的带有靶向物质的示踪或标记同位素为： ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{198}Au 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP 等)、 ^{111}In 、 ^{125}I 及 ^{131}I 、 ^{153}Sm -EDTMP 为主的一系列 β 内介入治疗剂， ^{90}Y -GTMS、 $^{89}\text{SrCl}_2$ 等。

4、由权利要求 1 所述的带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，其特征是与同位素结合的靶向物质包括人血清白蛋白 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA)、植酸钠、胶体 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、标记红细胞、EHIDA、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PMT、 ^{131}I -玫瑰红、硫胶体、DTPA、EHIDA、二巯丁二酸 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA)、葡萄糖酸钙、邻碘马尿酸，分子核医学的单克隆抗体、癌基因反义寡核苷酸。

5、由权利要求 1 所述的带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，其特征是微泡试剂包括氟碳微泡试剂，生理盐水制微泡试剂、半乳糖气泡液体、包膜气泡液体，二氧化碳型发生型微泡试剂，并包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。

6、由权利要求 5 所述的带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，其特征是二氧化碳型微泡试剂有两种，其一是物理形成二氧化碳气体微泡试剂，在压力下二氧化碳气体或液体注入溶有大分子物质的溶液中，其二是包括维生素 C 等 (Vitermin C) 有机酸和 NaHCO_3 构成的二氧化碳化学形成微泡试剂，维生素 C 和 NaHCO_3 二者均可以作为药物注射人体。

7、由权利要求 5 所述的带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂，其特征是二氧化碳型发生型微泡试剂，选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体，大分子的物质包括各种代血浆、自体血液，自体血浆，同型血浆，半乳糖，葡萄糖，乳糖，羟乙基淀粉 (Hetastarch)，人血白蛋白 (Human Serum Albumin)、右旋糖酐 70 (Dextran-70)、右旋糖酐 40 (Dextran-40)、右旋糖酐 10 (Dextran-10)、聚明胶 (Polygeline)、琥珀明胶 (Gelofusine)、聚维酮 (Polyvidone) 或氧化聚明胶 (Dxypolygelatin)。

8、带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂的用途，其特征是带有靶向物质的示踪或标记同位素用于低频、低功率超声诱导微泡的声孔效应引起血管栓塞的方法治疗肿瘤中对肿瘤区域定位。

9、由权利要求 8 所述的带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂的用途，其特征是利用具有治疗作用的带有靶向物质的示踪或标记同位素用于低频、低功率超声诱导微泡的声孔效应引起血管栓塞对肿瘤区域定位和同时利用发射 β 射线同位素电离辐射的生物学效应对肿瘤细胞的辐射。

10、由权利要求 8 所述的带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂的用途，其特征是血管栓塞时超声换能器的输出功率约为 1-100W，频率在 20-50kHz，处理时间在 0.5-60 分钟。

说明书

带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂及用途

一、技术领域

本发明涉及带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂及用途，尤其是特异性强的用于体内诊断和治疗的同位素标记物用于对肿瘤的检测、定位和增强效果，即对形成毛细血管栓塞超声微泡造影剂的应用作出检测和定位以及效果评价，同时涉及将靶向物质示踪或标记的同位素结合超声微泡造影剂形成毛细血管栓塞综合治疗肿瘤的应用。

二、背景技术

本申请人已经提出了超声微泡造影剂形成毛细血管栓塞综合治疗肿瘤的方法和试剂，利用在血管内诱导声孔效应释放高压高温，损伤周围血细胞，内皮细胞，激活内外源凝血途径，形成大量微血栓，切断兴趣区域的血液供应。尤其是在使用超声造影剂的情况下，有很好的动物模型和临床效果。然而，超声微泡造影剂有效阻断肿瘤血供，应用于在肿瘤治疗中存在监测和治疗应用间的矛盾问题：若在治疗前注射，当以超声定位时，造影剂即被失活，无法起治疗作用；而在治疗后定位，则无法准确定位。而准确的进行区域定位十分重要。

放射性同位素标记的药物利用其对病变组织的特异性靶向或附近组织（非特异性靶向）结合的特点，进行诊断和治疗，在许多场合可用于恶性肿瘤的定位；典型的是放射免疫显像和治疗。

放射免疫显像的方法是：标记单克隆抗体，经一定途径引入体内后，可定向地、特异地与肿瘤细胞相关抗原结合，经过一段时间后，肿瘤部位放射性积聚至一定浓度，用 γ 相机或SPECT进行平面或断层显像，即可显示肿瘤及转移灶的大小、部位和范围。适应症：肿瘤探查（已知原发灶，了解肿瘤浸润及转移情况；原发灶切除术后，探查肿瘤有无转移；已知转移灶，原发灶探查）。肿瘤定性，肿瘤分期。

放射免疫治疗的方法是：利用特异性抗体作载体将发射 β -或 α 粒子的放射性同位素核素引向肿瘤抗原部位，实现对瘤体的内照射治疗，多为静脉给药，也可局部给药，经过广泛临床试用，已经有相当效果。

靶向同位素标记的诊断或治疗试剂或药剂多种商品化应用包括：如用于神经系统显像和局部脑血流断层显像和脑血管造影的： ^{99m}Tc -六甲基丙二胺胍、 ^{99m}Tc -HMPAO、 ^{99m}Tc -双半胱、 ^{99m}Tc -ECD、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 、 ^{99m}Tc -二亚乙三胺五醋酸、 ^{99m}Tc -DTPA、 ^{99m}Tc -葡庚糖酸盐、 ^{99m}Tc -GH等 ^{99m}Tc 标记药物，还包括 ^{123}I -安非他明、 ^{123}I -IPM、 ^{123}I -HIPDM等 ^{123}I 标记药物。

还有PET脑代谢显像标记药物： ^{18}F -2-脱氧葡萄糖、 ^{18}F -FDG、 ^{14}C -脱氧葡萄糖

糖、 ^{11}C -DG。

脑受体显像包括乙酰胆碱受体： ^{123}I -IQNB、 ^{11}C -Nicotine、 ^{11}C -QNB；

DA： ^{123}I - β -CIT、 ^{11}C -Spiperone、 ^{123}I -IBZM、 ^{11}C -Raclopride、 ^{123}I -ILIS、 ^{18}F -Dopa

5-羟色胺： ^{123}I -Ketanserin、 ^{76}Br -2-Ketanserin

心肌灌注显像： ^{201}Tl -氯化亚铊 ($^{201}\text{TlCl}$)、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -甲氧基异丁基异晴 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI)、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrafosmin (P53)、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -furifosmin、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -teboroxime、 ^{82}Rb 、 ^{13}N - NH_3 、 ^{15}O - H_2O ；

急性心肌梗塞灶显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -焦磷酸盐 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP)、 ^{111}In -抗肌凝蛋白单克隆抗体；

心肌脂肪酸代谢显像： ^{11}C -标记的棕榈酸 (^{11}C -PA)、 ^{123}I -游离脂肪酸；

心肌代谢显像： ^{18}F -2-脱氧葡萄糖 ^{18}F -FDG

心肌有氧代谢显像： ^{11}C -乙酸 (^{11}C -acetate)

心肌氨基酸代谢显像： ^{13}N -谷氨酸

估计心肌存活显像： ^{82}Rb

心肌乏氧显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PnAO-2-硝基咪唑、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BnAO)

下肢静脉造影： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -人血清白蛋白 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA)

消化系统显像

肝显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -植酸钠 胶体 $^{113\text{m}}\text{In}$

肝动脉灌注和血池显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记红细胞 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -植酸钠

肝胆显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EHIDA、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PMT、 ^{131}I -玫瑰红

唾液腺显像： $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$

食道通过功能显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 硫胶体

胃排空显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 硫胶体 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA

胃食道反流显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 硫胶体 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA

十二指肠反流显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EHIDA

异位胃粘膜显像： $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$

胃肠道出血显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记红细胞

泌尿系统显像和功能测定：

肾静态显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -二巯丁二酸 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA) $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -葡萄糖酸钙

肾动态显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA ^{131}I 邻碘马尿酸 (^{131}I -OIH) $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG₃ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC

肾图显像： ^{131}I 邻碘马尿酸 (^{131}I -OIH)

肾动脉灌注和血池显像： $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA

肾有效血流量和肾小球滤过率： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA ^{131}I -OIH

膀胱造影：

心血管造影： $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ $^{99\text{m}}\text{Tc-HSA}$

心血池动态显像和心室功能测定： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记红细胞， $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -人血清白蛋白；还包括
阴囊造影、骨骼显像、关节显像、肺显像等方面的应用

肺灌注显像： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -人血清白蛋白 ($^{99\text{m}}\text{Tc-MAA}$)

肺通气显像： ^{133}Xe $^{81\text{m}}\text{Kr}$ $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$

治疗用同位素物质和药剂：

^{131}I -治疗甲亢，功能自主性甲状腺瘤，功能性甲状腺癌转移灶

^{32}P 治疗真性红细胞增多症和原发性血小板增多

放射性胶体腔内治疗： ^{32}P 胶体磷酸锆

^{131}I -MIBG 治疗嗜铬细胞瘤和交感神经母细胞瘤放射性核素治疗恶性骨转移肿瘤

磷 Phosphorus ^{32}P

钐 Samarium ^{153}Sm

铼 Rhenium ^{186}Re

锶 ^{89}Sr

放射性微球选择性动脉灌注： ^{90}Y ^{32}P -玻璃微球

肿瘤的放射免疫治疗：

^{125}I ^{131}I ^{125}I ^{153}Sm ^{186}Re ^{90}Y ^{211}At 放射性同位素标记单抗的多种应用

肝癌：抗 AFP 多克隆抗体、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗转铁蛋白受体的单克隆抗体

结、直肠癌： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗 CEA 单克隆抗体、 ^{111}In -CYT-103 单克隆抗体

卵巢癌： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗 CEA 单克隆抗体 C₅₀

肺癌： ^{111}In -F023C5 的 F(ab')₂ 片段

胃癌： ^{131}I -抗胃癌单抗 3H11、3G9 及其 F(ab')₂ 片段

脑胶质瘤： ^{131}I -单克隆抗体 SZ-39 + $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP 进行双核素通道断层显像

^{131}I -人/鼠嵌合抗体 chTNT-1

成骨肉瘤： ^{131}I -抗人成骨肉瘤单抗 (OSMcAb-B4)

甲状腺癌： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{125}I 或 ^{131}I 标记的抗 CEA 单克隆抗体 NP-4 或 MN-14

膀胱癌： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗膀胱癌单克隆抗体 BDI-1

前列腺癌：人精浆蛋白和前列腺酸性磷酸酶单克隆抗体

^{131}I -人精浆蛋白单克隆抗体。

另还有 β -粒子敷贴疗法。

而超声微泡试剂具有多种，如被美国 FDA 批准临床应用的试剂 Albunex 和 Optison 等，氟碳微泡试剂，生理盐水制微泡试剂以及如下超声微泡试剂：SHU508 半乳糖气泡液体，列微显（德国先林灵公司产品），还有 fso69 包膜气泡液体，Molecular Biosystems Inc. USA), 3) SHU454 半乳糖气泡液体，(Schering AG German) QW3600 (Sonus Pharmaceuticals Cosla Mesa) 等。

本申请人已经提出了超声微泡造影剂形成毛细血管栓塞综合治疗肿瘤的新试剂,采用二氧化碳型发生型微泡试剂,并包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。大分子的物质有多种选择,包括各种代血浆、自体血液,自体血浆,同型血浆,半乳糖,葡萄糖,乳糖,羟乙基淀粉(Hetastarch),人血白蛋白(Human Serum Albumin)、右旋糖酐 70(Dextran-70)、右旋糖酐 40(Dextran-40)、右旋糖酐 10(Dextran-10)、聚明胶(Polygeline)、琥珀明胶(Gelofusine)、聚维酮(Polyvidone)或氧化聚明胶(Dxypolygelatin)。而半乳糖,葡萄糖相对分子量较小,粘度低,稳定和携带气泡的时间短。

二、 发明内容

本发明目的是:提出一种带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂及用途,尤其是特异性强的用于体内诊断和治疗的同位素标记物微泡试剂,用于对肿瘤的检测、定位,即对形成毛细血管栓塞超声微泡造影剂的应用作出区域定位以及治疗效果评价;解决应用于在肿瘤治疗中监测和治疗应用间的矛盾问题;

本发明的目的还在于:提高在定位和定区域形成毛细血管栓塞治疗肿瘤和恶性肿瘤的效果;

本发明的目的还在于:涉及将靶向物质示踪或标记的同位素治疗同时结合超声微泡造影剂形成毛细血管栓塞综合治疗肿瘤的方法。

本发明的目的是这样实现的:带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂,将超声微泡造影剂与带有靶向物质的示踪或标记同位素物质混合或结合,从而可以用 γ 射线相机或 γ 射线SPECT设备或检测俄歇电子示踪的PET设备进行同位素检测,从而对肿瘤进行准确的区域定位。

带有靶向物质的示踪或标记同位素微泡试剂的种类很多,如同位素标记白蛋白微泡,同位素标记的物质如上所述:涉及 ^{125}I 、 ^{123}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP等)、 ^{111}In 、 ^{14}C 、 ^{18}F 、 ^{13}N 、 ^{86}Rb 。其中正电子衰变放射性核素 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}F 等机体天然存在的元素标记的放射性药物用于PET显像,进行了脑、心肌灌注显像,代谢显像,肿瘤良、恶性判断显像。

同时具有治疗功能的带有靶向物质的示踪或标记同位素: ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{198}Au 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PYP等)、 ^{111}In 、 ^{125}I 及 ^{131}I 、 ^{153}Sm -EDTMP为主的一系列 β 内介入治疗剂, ^{90}Y -GTMS、 $^{89}\text{SrCl}_2$ 等。

靶向物质包括上述-人血清白蛋白($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA)、植酸钠、胶体 ^{111}In 、标记红细胞、EHIDA、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PMT、 ^{131}I -玫瑰红、硫胶体、DTPA、EHIDA、二巯丁二酸($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA)、葡萄糖酸钙、邻碘马尿酸,尤其包括分子核医学的单克隆抗体、癌基因反义寡核苷酸等,从而使受体放射性核素显像和放射性核素治疗有更好的效果。

微泡试剂包括已经作为临床的氟碳微泡试剂，生理盐水制微泡试剂、半乳糖气泡液体、包膜气泡液体，也包括二氧化碳型发生型微泡试剂，并包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。二氧化碳型微泡试剂有两种，其一是物理形成二氧化碳气体微泡试剂，在压力下二氧化碳气体或液体注入溶有大分子物质的溶液中，其二是包括有机酸如维生素 C 等（Vitermin C）和 NaHCO_3 构成的二氧化碳化学形成微泡试剂，维生素 C 和 NaHCO_3 二者均可以作为药物注射人体。二者反应生成二氧化碳微泡气体，可以进行本发明所施行的手术。减脂美容术使用微泡试剂的方法类同，将超声微泡试剂注入的方式，且可以局部注入空化成核剂，在需要减脂的部位用超声波进行贴近照射，选择性诱导形成积淀的脂肪细胞破坏。只要采用低能量和低频率的超声波即可，处理时间也很宽，没有特殊限定，一般在 0.5-60 分钟。

为了保证微泡气体气泡的粒径和稳定，选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体，尤其使用代血浆类包裹体，如羟乙基淀粉（Hetastarch）等。

一般而言，有机酸的种类很多：如抗坏血酸（维生素 C）、乳酸，柠檬（枸橼）酸，琥珀酸，酒石酸，乙酸，乳糖酸、半乳糖酸、葡萄糖酸、氨基葡萄糖酸、氨基酸等。尤其注射药用级的柠檬酸、乳酸，葡萄糖酸、氨基酸是常用的选择。

核医学显像的优势在于显示组织代谢变化和器官功能与解剖结构相结合的影像，可以鉴别恶性肿瘤和良性病变，核医学显像和功能测定可以推测出心脏、大脑、肝、肾、肺等脏器早期功能变化，血液供给和代谢改变，在恶性肿瘤还没有形成包块，甚至仅有癌基因的扩增和过度表达就可以测知其存在。

本发明的特点是：

本发明将同位素标记物与包括人血白蛋白的的各种靶向物质结合再制成超声微泡造影剂，可完美解决此缺陷：治疗前注射，不能超声定位，而在治疗后定位，则无法准确超声定位。既可以通过 SPECT 利用同位素发射 γ 射线进行示踪监测，又可以利用同位素发射的可产生较强电离生物作用的 β 射线对肿瘤进行近距离内放射治疗，灭活肿瘤细胞，并实时监测，随时补充，必将成为肿瘤休眠疗法的新手段。治疗效果的评价也可以用本发明方法比较简单的得到：由于血管栓塞造成的同位素标记物无法再进入，或治疗时血管栓塞造成的同位素标记物无法从毛细血管流出，可以从代谢的量评价治疗的单一或综合效果。

同位素标记微泡的生物学效应的研究主要是通过对超声微泡进行修饰，研究其动力学特性的理论，研究同位素标记微泡的制备以及动物体内代谢动力学和分布，开发超声微泡的工艺路径，为超声微泡临床使用提供科学的依据；为临床肿瘤栓塞治疗提供一个崭新的方法。利用超声微泡定位声孔效应栓塞微小血管，利用同位素标记进行定位实时监测，及时补充治疗、观察疗效和预测预后；同时还

可以利用同位素进行局部放射性治疗，为临床肿瘤治疗提供一个广阔的前景。

1、本发明结合利用超声微泡连接同位素诱导的肿瘤血管栓塞治疗，是一种极有应用前景的综合治疗新技术对于诊断和治疗用的超声微泡的开发和应用也是十分重要的。

2、动物实验和临床实验探索微泡声空化和细胞损伤的生物效应是十分复杂的，目前动物实验效果明显。

3、超声辐射放射性微泡致肿瘤血管栓塞技术的研究，在观察到超声辐射诱导小血管血栓栓塞的基础上，提出了放射性技术引入超声造影剂使两者的效应相得益彰，用同位素影像的靶向定位、无创、实时监测的优点，克服了超声微泡的缺点，使得肿瘤治疗过程中能依靠同位素技术实时监测，及时补充治疗，了解预后。

4、不但用低频、低功率超声诱导微泡的声孔效应引起血管栓塞的方法治疗肿瘤；同时利用发射 β 射线同位素电离辐射的生物学效应对肿瘤细胞的辐射作用，达到一次用药双重治疗的效果。

5、以 ^{99m}Tc -标记白蛋白微泡等为代表的超声诱导治疗肿瘤是一种局部治疗方法，局部治疗较化疗和放疗的明显优势是使治疗肿瘤的全身毒性降到最低。

6、本发明是物理学、电子学、超声、核医学、肿瘤学的有机结合，挖掘了基础学科的应用潜力，从分子病理学、分子生物学等多方面阐述这种非创伤性的治疗方法的机理，推动了超声、核医学、肿瘤学的进展，为它开辟了广阔的新空间，符合目前多学科相互交叉，相互渗透，相辅相成，取长补短的研究理念，使肿瘤治疗更科学、更实用。

四、具体实施方式

(一) 微泡的制备、物理、化学鉴定：

1、微泡的制备 配置不同蔗糖浓度的 5% ($\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) 人血清白蛋白溶液各 10 ml，置于 50 ml 聚四氟乙烯塑料杯中，溶液依次以氧气和全氟丙烷饱和后，再将 UGI 型超声波发生器的探头略置入液面以下，在 150W 下，声处理 1min (频率固定，20Hz)，制备出的微泡，密闭保存，以备测定。

另外可以选用商品化的列微显 SHU508 半乳糖气泡液体和氟碳微泡试剂 Albunex。

用氟碳微泡造影剂，其制备是可以取 5% 人白蛋白溶液 10ml 装入塑料注射器中，使用进口声振仪处理。声处理过程中向白蛋白溶液内匀速注入氟碳气体。采用该方法制备得到的造影剂微泡直径为 $2.0\sim 5.0\mu\text{m}$ ，其中 98% $<10\mu\text{m}$ ；微泡浓度为 $(1\sim 2)\times 10^{12}$ 个/L。超声微泡造影剂注入的方式作为 (1) 动脉注射；(2) 静脉注射；(3) 动静脉插管或留置导管注射；(4) 局部注射。

同时制作二氧化碳型微泡试剂维生素 C (Vitermin C) 和 NaHCO_3 构成的二氧化碳化学形成微泡试剂，以羟乙基淀粉作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带

气泡的载体。二氧化碳型微泡直径较大，20 μm 左右。

为便于与交换产生 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 核素结合，选定溶液的 pH 值为 6。选用不同的核素交换反应的条件，选取不同的 pH 值。

2、微泡的性能测定

微泡制备 1h 及 24h 后，分别实行测定。耐热性能通过测定 5 个温度点下，微泡的存活率来实现，测量的时间间隔为 30 min，由恒温水浴箱实现恒温过程，微泡浓度由细胞计数器和显微镜测定，通过调节显微镜的比色片，使微泡同周围环境区分开，以便于观测；微泡的大小通过显微镜上的标尺估算，视频图像由连接在显微镜上的摄像头动态输入计算机。微泡造影剂谐波性能，通过超声仪测定，测定时用少量奶作为背景散射源，并用金属板和造影剂的回波反射信号进行对比。

pH 值为 6。微泡的性能测定表明，上述几个在 1 小时之内微气泡的存活率大于 90%。均可以应用于临床。

（二）同位素标记微泡的制备：

1、半成品的制备：

①将 25% 人血清白蛋白 4 毫升加入 2 毫升 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶液（1 毫克/毫升）内。

②用 1N NaOH 调节 pH 值为 6。

③用生理盐水稀释至人血清白蛋白 ≥ 135 毫克/毫升。

3、标记操作：

加消毒过的 $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ 液 0.1~1 毫升于上述 1 毫升半成品溶液内，混合 1 分钟即可供临床使用。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -白蛋白的制备： $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -白蛋白，将 2.1mg 的白蛋白，126 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和少量苯甲醇于安瓿内冻干，加入 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ ml 混匀后成淡黄色悬浮液，然后在室温下放置 5 分钟，再混合数秒后即可静脉注射。对于这种比较粘稠性的白蛋白溶液或胶体溶液可以采用超声波探头在溶液中产生微泡。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -白蛋白微泡的形态观察，泡径，泡径分布仍然与常规微泡没有多大区别，泡径分布 20-50 μm 。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -白蛋白微泡能够稳定一段时间； $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗转铁蛋白受体的单克隆抗体结合的几种微泡根据 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗转铁蛋白受体的单克隆抗体产品说明书制作微泡。注射级的同位素核素如亚锡甲氧异腈 (MIBI)、邻碘 [^{131}I] 马尿酸钠注射液 ^{125}I 均可直接使用。

Wistar 大鼠尾静脉注射同位素标记微泡，于不同时间测定各器官的放射性，通过计算机处理数据，获得药物动力学参数。

大鼠同位素标记微泡的体内分布实验：

大鼠静脉注射同位素标记白蛋白微泡，测定注射后 2 分，30 分，60 分，120 分后，血液、心脏、肝、肾、脾、脑、肺、骨等处的放射性计数。

大鼠整体放射性自显影:

向正常 Wistar 大鼠尾静脉注射同位素标记白蛋白微泡后迅速浸入 -80°C 丙酮与干冰的混合液中, 然后用质量分数为 8% 的羧甲基纤维素制备的包埋剂包埋, -80°C 冰箱中冷冻 2 h, LKB-2250PMV 大型推拉式冰冻切片机切片, 切片厚度为 $40\mu\text{m}$, 冰冻脱水干燥, 用 GS-250 分子成像系统进行扫描, 观察同位素标记白蛋白微泡在大鼠体内和脑内的放射性分布。

超声诱导正常大鼠、荷瘤大鼠同位素($^{99\text{m}}\text{Tc}$)标记微泡的血管栓塞的生物学效应:

选用对照组和实验组各 12 只大鼠, 对照组静脉注射微泡, 实验组大鼠静脉注射同位素标记白蛋白微泡, 低频、低功率超声测定诱导栓塞局部血管。实验后 2 分, 30 分, 60 分, 120 分, 24 小时、48 小时, 用显微镜观察对比心脏、肝、肾、脾、脑、肺、骨等处的病理情况, 同时进行同位素显像监测。放射性均匀分布。用治疗肝癌: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -抗转铁蛋白受体的单克隆抗体对实验组荷肝肿瘤 12 只大鼠进行试验。

同时观察荷肝肿瘤大鼠同位素($^{99\text{m}}\text{Tc}$)标记微泡的血管栓塞的生物学效应, 放射性在肝区富集分布, 切片表明与对照组相比: 5-10 天后, 实验组比对照组的肿瘤抑制效果明显。免疫组织化学方法和原位杂交等分子病理学方法检测正常动物及移植瘤模型的组织标本血管损伤的标记物和放射性核素肝血管造影方法观察辐射区血流的变化也得到正面的效果。

用 ^{131}I 一邻碘马尿酸盐有相似的效果。

(三) 采用低频、低功率超声诱导荷瘤大鼠同位素(^{131}I 、 ^{125}I)标记白蛋白微泡的血管栓塞的生物学效应: 选用对照组和实验组各 12 只大鼠, 对照组注射($^{99\text{m}}\text{Tc}$)标记白蛋白微泡, 实验组大鼠静脉注射 ^{131}I 标记白蛋白微泡, 低频、低功率超声测定诱导栓塞局部血管。实验后 2 分, 30 分, 60 分, 120 分, 24 小时、48 小时, 用显微镜观察对比心脏、肝、肾、脾、脑、肺、骨等处的病理情况, 同时进行同位素显像监测。亦有同上例的效果。

超声+微泡试剂作用时, 血管栓塞率达到 90%。而加 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 同位素血管栓塞率并无显著增加。

超声换能器的输出功率约为 1-100W, 一般 5-30W, 频率在 20-50kHz, 此能量注入, 超声波本身不会给正常机体造成任何不良影响, 各种超声微泡造影剂均可以成为本发明的药用用途。处理时间也很宽, 一般在 0.5-60 分钟。

(四) 本申请人提出的超声微泡造影剂形采用二氧化碳型发生型微泡试剂, 并包括选取大分子的物质作为超声试剂的包裹、黏附、稳定和携带气泡的载体。大分子的物质有多种选择, 包括各种代血浆、自体血液, 自体血浆, 同型血浆, 半乳糖, 葡萄糖, 乳糖, 羟乙基淀粉 (Hetastarch), 人血白蛋白 (Human Serum

Albumin)、右旋糖酐 70 (Dextran-70)、右旋糖酐 40 (Dextran-40)、右旋糖酐 10 (Dextran-10)、聚明胶 (Polygeline)、琥珀明胶 (Gelofusine)、聚维酮 (Polyvidone) 或氧化聚明胶 (Dxypolygelatin)。而半乳糖, 葡萄糖相对分子量较小, 粘度低, 稳定和携带气泡的时间短。微泡试剂有两种, 其一是物理形成二氧化碳气体微泡试剂, 在压力下二氧化碳气体或液体注入溶有大分子物质的溶液中, 其二是包括有机酸如维生素 C 等 (Vitermin C) 和 NaHCO_3 构成的二氧化碳化学形成微泡试剂, 维生素 C 和 NaHCO_3 二者均可以作为药物注射人体。二者反应生成二氧化碳微泡气体, 可以进行本发明所施行的手术。减脂美容术使用微泡试剂的方法类同, 将超声微泡试剂注入的方式, 且可以局部注入空化成核剂, 在需要减脂的部位用超声波进行贴近照射, 选择性诱导形成积淀的脂肪细胞破坏。只要采用低能量和低频率的超声波即可, 处理时间也很宽, 没有特殊限定, 一般在 0.5-60 分钟。

为了保证微泡气体气泡的粒径和稳定, 选取大分子的物质代血浆类包裹体, 如羟乙基淀粉 (Hetastarch) 等。

二氧化碳微泡气体型

典型的配方如下: 维生素 C (Vitermin C, 包括上述各种有机酸) 25% (折合浓度 100%)

NaHCO_3 50% (折合浓度 5%)

羟乙基淀粉 (Hetastarch) 25%

每公斤体重注射 1-10 毫升, 产生的微泡数量达到每毫升 10^6 - 10^{10} , 粒径 1-10 微米,

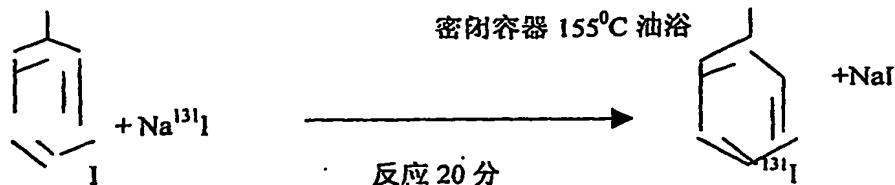
本试剂临床使用时应按体重身高、体表面积计算二氧化碳最大承受量, 在上述范围内调整。

- 1、二氧化碳型微泡剂, 在体内易于溶解随呼吸从肺排出, 减少微气泡引起气体栓塞的几率。
- 2、以胶体羟乙基淀粉等 (代血浆) 作为胶体增加微气泡在血液中的稳定性, 减少了二氧化碳在肺内排出的几率。保持微泡的时间长。
- 3、羟乙基淀粉替代人血白蛋白 (如氟碳人血白蛋白微泡剂), 无血液制品引起过敏和血源传染性疾病的危险性。采用 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 发生器和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 药盒的研制” 以其技术上的先进性及其取代进口产品 (北京原子高科核技术应用股份有限公司)

(五) 本发明所涉及的放射性同位素标记方法可以用常规的方法:

1. 同位素交换法 是最简单的标记化合物制备方法之一, 即将欲标记的普通化合物 Ax 与简单放射性化合物 Bx^* 混合, 在特定条件下, 放射性化合物的放射性核素 X 可与普通化合物的非放射性同位素 X 发生交换反应, 而获得 AX^* 。 $\text{Ax} + \text{BX}^* \rightarrow \text{AX}^* + \text{BX}$ 。

例如 ^{131}I —邻碘马尿酸盐的制备:



2. 化学合成法 是常用的放射性核素标记化合物的制备方法。利用最简单的放射性化合物作原料, 根据通常化学合成原理来制备各种标记化合物, 也可以采用化合物的中间体, 以简化化学合成的线径和步骤。

3. 核素单纯标记法 某些有机化合物, 如蛋白质、多肽等只需通过简单的化学反应, 即能将放射性核标记在化合物上。如 ^{131}I —碘化蛋白类的制备, 即属任何蛋白质、多肽或一些不含蛋白质的化合物, 只要联结上酪氨酸分子后, 均可用碘加以标记。最常用的有氯胺—T法和Iodogen法。首先将 Na^{131}I 氧化成 $^{131}\text{I}_2$ 分子, $^{131}\text{I}_2$ 即能与蛋白分子中的酪氨酸芳香环上的羟基邻位的二个氢原子发生置换反应, 而获得放射性碘标蛋白。

4. 络合物形成法 是化学合成的重要分支, 也是核医学中制备标记化合物常用的方法, 目前 80% 的常用标记化合物均由络合物原理制备。这是由于 $^{90}\text{m}\text{Tc}$ 和 $^{113\text{m}}\text{In}$ 发生器的广泛应用, 在核医学中占有突出地位所致。通过络合剂的配位键与金属离子络合的途径, 仅 $^{90}\text{m}\text{Tc}$ 一项, 即可制备多达数十种 $^{90}\text{m}\text{Tc}$ 的标记化合物。

5. 生物合成法 把简单的放射性核素标记化合物引入生物(植物、动物和微生物)体内, 通过生物的生理、代谢过程, 可以制备一些难以化学合成的复杂的标记化合物, 如蛋白质、激素等。

(六)、放射性生物效应量效关系

放射生物方面

线性二次模型 (linear-quadratic model, LQ 模式): 是近年来放射生物学应用于放射治疗最大的贡献, 它描述了分割治疗中分割剂量与总等效剂量的关系。NSD 主要是根据观察正常皮肤放射反应及控制皮肤癌的剂量, 因此, 对不同的正常组织及不同的肿瘤不准确。特别是低估了晚期反应组织的效应。LQ 模式中不同组织及不同肿瘤的 α / β 比不一, 且其值还不很清楚。因而, 这一公式的应用也存在着限制。

T_{pot} : 肿瘤潜在倍增时间 (potential doubling time) 是指肿瘤细胞增长一倍的时间, 不考虑细胞丢失。它取决于肿瘤生长的部分多大及肿瘤细胞周期的长短。它可以用很多方法测定, 如 ^3H —TdC 标志分裂细胞的百分数, 胸腺嘧啶核苷类似物 IudR, BudR, 流式细胞仪等等。特别是 IudR, BUdR 可以用于人体,

所以热了一段时间。一些肿瘤的 T_{pot} 已测出，但肿瘤不一，同一肿瘤不同部位也不一样，限制了在临床上的应用。

由于了解到照射以后肿瘤细胞增殖加速，临床病例分析也证实延长放射治疗的总疗程会造成局部控制率下降，上海肿瘤医院采用后程加速放射治疗食管癌取得较好疗效。

放射性核素衰变时放出的射线，若在组织内能贯穿的距离不超过 1 厘米者就称为非贯穿性辐射，它包括了下述一些射线：

- (1) β 射线和 β^+ 射线；(2) 内转换电子；(3) 俄歇电子；
- (4) 能量小于 11.3keV 的 X 射线和 γ 射线，其中包括原子序数 $Z < 35$ 的元素的 K—特征 x 射线，原子序数 $Z < 85$ 的元素的 L—特征 X 射线，以及所有元素的 M—特征 X 射线。

由于人体内不同器官的有效半径一般都大于 1 厘米，因此沉积在这些器官内放射性核素所放出的非贯穿性辐射，对组织的作用可看作仅限于核素所在的器官上内，亦即非贯穿性辐射的能量将全部被所在器官的组织所吸收。

各种非贯穿性辐射内辐射吸收剂量的计算方法是相同的。下面将以 β 射线为例说明之。应该指出，某种放射性核素的 β 内辐射吸收剂量不是单指 β 射线内辐射的吸收剂量，而是包括该核素所放出各种非穿透性辐射内辐射吸收剂量的总和。

设某种放射性核素均匀分布在组织中。其浓度为 C (微居里/克)，核衰变时放出一种 β 射线，其平均能量为 \bar{E}_β (兆电子伏特)^①。若放出的 β 射线可被组织全部吸收，则单位时间内每克组织所吸收的能量为： $\dot{D}_\beta = C$ (微居里/克) $\times 3.7 \times 10^4$ (衰变/秒·微居里) $\times \bar{E}_\beta$ (兆电子伏特/衰变) $\times 1.6 \times 10^{-8}$ (尔格/兆电子伏特) $= 5.92 \times 10^{-2} C \bar{E}_\beta$ (尔格/克·秒) 因为 1 拉德=100 尔格/克，故上式可化成 $\dot{D}_\beta = [5.92 \times 10^{-2} C \bar{E}_\beta]$ (尔格/克·秒) $\times 1/100$ (克·拉德/尔格) $= 5.92 \times 10^{-4} C \bar{E}_\beta$ (拉德/秒) \dot{D}_β 即组织所接受到的 β 吸收剂量率。

(二) 内辐射的 β 吸收剂量

设时间 $t=0$ 时，组织内 β 放射性核素的浓度为 C_0 (微居里/克)，组织在 t 天内所接受到的 β 射线吸收剂量可从将上式对时间积分求得，即

$$\begin{aligned} D_\beta &= \int \dot{D}_\beta \cdot dt = \int_{t=0}^{\infty} 5.92 \times 10^{-4} C_0 \sum (n_i \bar{E}_{\beta i}) \cdot e^{-0.693 T_{eff} t} dt \\ &= 5.92 \times 10^{-4} C_0 \sum (n_i \bar{E}_{\beta i}) \times T_{eff} / 0.693 [1 - e^{-0.693 T_{eff} t}] \\ &= 73.8 C_0 T_{eff} \sum (n_i \bar{E}_{\beta i}) [1 - e^{-0.693 T_{eff} t}] \text{ (拉德)} \quad (1-16) \end{aligned}$$

式中 T_{eff} 为 β 放射性核素的有效半减期，在这里以天为单位。上式是计算一次进入体内的 β 放射性核素所致的 β 总吸收剂量。

当 $t \gg T_{eff}$ 时，上式因其方括弧内指数项等于零而可简化为：

$$D_\beta = 73.8 C_0 T_{eff} \sum (n_i \bar{E}_{\beta i}) \text{ (拉德)} \quad (1-17)$$

这也就是从 β 放射性核素进入组织内到放射性衰变和生物排出全部消失时为止，组织所受到的 β 总吸收剂量。

(三) 平衡吸收剂量常数及其应用

现在核医学中计算内辐射的吸收剂量时，常引用一个称为平衡吸收剂量常数 Δ 的量。其定义为放射性核素每次核衰变时放出的总能量，即

$$\Delta = \sum \Delta_i = \sum (n_i \bar{E}_i) \text{ (兆电子伏特 / 衰变)} \quad (1-18)$$

式中 Δ_i 为放射性核素放出的第 i 种射线（可以是 β 射线、 γ 射线、特征X射线或内转换电子等）的平衡吸收剂量常数（兆电子伏特）， n_i 为每次核衰变时第 i 种射线的平均发射百分率（%）， \bar{E}_i 为每次核衰变放出第 i 种射线的平均能量（单位为兆电子伏特 / 衰变）。对于某种 β 射线， \bar{E}_i 就是 β 射线的平均能量 $\bar{E}_{\beta i}$ 。

时间为 t 时内辐射的 β 吸收剂量率为：

$$\begin{aligned} \dot{D}_\beta &= C \sum \Delta_i \\ &= (\sum \Delta_i) C_0 e^{-0.693 \cdot t / T_{eff}} \text{ 拉德 / 小时} \quad (1-21) \end{aligned}$$

式中 Δ_i 的单位为克·拉德 / 微居里·天， T_{eff} 和 t 均以小时为单位。将上式对时间 t 积分，即得 t 小时内组织所受内辐射的 β 吸收剂量：

$$\begin{aligned} \bar{D}_\beta &= (\sum \Delta_i) C_0 \times T_{eff} / 0.693 [1 - e^{-0.693 \cdot t / T_{eff}}] \\ &= 1.443 (\sum \Delta_i) C_0 T_{eff} [1 - e^{-0.693 \cdot t / T_{eff}}] \text{ 拉德} \quad (1-22) \end{aligned}$$

式中 Δ_i 的单位为克·拉德 / 微居里·天， T_{eff} 和 t 均以小时为单位。如果 t 均以天为单位，附则上式可化成：

$$\begin{aligned} \bar{D}_\beta &= 1.443 (\sum \Delta_i) C_0 T_{eff} [1 - e^{-0.693 \cdot t / T_{eff}}] \times 24 \\ &= 34.6 (\sum \Delta_i) C_0 T_{eff} [1 - e^{-0.693 \cdot t / T_{eff}}] \text{ 拉德} \quad (1-23) \end{aligned}$$

即代表组织在 t 天内所受内辐射的 β 吸收剂量：式中 Δ_i 的单位为克·拉德 / 微居里·天， T_{eff} 和 t 均以小时为单位。

当 $t \gg T_{eff}$ 时，上式即简化成为

$$\bar{D}_\beta = 34.6 (\sum \Delta_i) C_0 T_{eff} \text{ (拉德)} \quad (1-24)$$

它代表由于放射性核素的核衰变和生物排出而全部消失所致的组织总产吸收剂量。

例：病人体重75公斤，给予10毫居里 ^{32}P ，设 ^{32}P 被完全吸收，均匀分布于全身，没有生物排出，求组织所受的总吸收剂量？

^{32}P 在体内均匀分布的放射性浓度，本发明在采用同时具有治疗功能的带有靶向物质的示踪或标记同位素时遵循上述方法。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.